Aus der Bundesanstalt für Materialprüfung
Leiter der Fachgruppe "Elektrochemische Sauerstoffmessungen":
Oberregierungsrat Professor Dr. ing. F. Tödt
und der Chirurgischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses Moabit.
Direktor: Chefarzt Dr. med. Hellenschmied.

Untersuchungen über den Einfluss von Glukose, Fruktose und Methylenblau auf Atmung und Wachstum des EHRLICH'schen Mäuseascitescarcinoms.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
R a n k e Eberhard
aus Merseburg

1961

Druck:

Ernst - Reuter - Gesellschaft
der Förderer und Freunde der Freien Universität e.V.

Dissertations - Druckstelle

Berlin-Dahlem, Garystr. 45, Tel.: 76 52 61, App. 668

Aus der Bundesanstalt für Materialprüfung
Leiter der Fachgruppe "Elektrochemische Sauerstoffmessungen":
Oberregierungsrat Professor Dr. ing. F. Tödt
und der Chirurgischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses Moabit.
Direktor: Chefarzt Dr. med. Hellenschmied.

Untersuchungen über den Einfluss von Glukose, Fruktose und Methylenblau auf Atmung und Wachstum des EHRLICH'schen Mäuseascitescarcinoms.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
R a n k e Eberhard
aus Merseburg

Dekan: Professor Dr. med. Selbach
Referent: Frau Professor Dr. med. Else K n a k e
Korreferent: Professor Dr. med. Wilhelm M a ß h o f f

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 19. 9. 61

Untersuchungen über den Einfluss von Glukose, Fruktose und Methylenblau auf Atmung und Wachstum des EHRLICH'schen Mäuseascitescarcinoms.

Inhaltsübersicht.

I. Einleitung.
II. In-vitro Versuche.
1. Methode.
2. Material.
3. Befunde.
III. In-vivo Versuche.
1. Befunde.
2. Diskussion.
IV. Zusammenfassung.
V. Literatur.
VI. Lebenslauf.

Einleitung.

Nachdem von WARBURG [1] gefunden war, dass der Krebsstoffwechsel durch eine stark verringerte Atmung und eine hohe aerobe Glykolyse gekennzeichnet ist, wurde die Untersuchung der Atmung von Krebszellen in zahlreichen wissenschaftlichen Veröffentlichungen beschrieben. Das Maß für die Atmung ist nach WARBURG der Qo_2-Wert, welcher die Anzahl verbrauchter mm^3 Sauerstoff pro Stunde und mg Trockensubstanz angibt. Die Messung wird meist mit der WARBURG'schen Manometrie durchgeführt. In den letzten Jahren hat sich die von TÖDT angegebene [2] elektrochemische Sauerstoffmessung als brauchbar erwiesen. Die besonderen Vorzüge dieser Methode sind die einfache und schnelle Durchführbarkeit sowie die zeitlich lückenlose Ablesung der Atmungswerte. Es lag daher nahe, die elektrochemische Sauerstoffmessung für die Atmungsmessung von Krebskulturen heranzuziehen. Als Kultur erschien die wegen der leichten Beschaffung und Züchtung allgemein benutzte, von LOEWENTHAL und JAHN entdeckte [3] Mäuseasciteskultur besonders geeignet. 4)
Das Hauptziel der folgenden Untersuchungen war zunächst die Feststellung von Änderungen der Atmungsgeschwindigkeit entnommener Asciteskulturen durch Zusätze und sodann eine Ergänzung dieser in-vitro-Versuche durch in-vivo-Untersuchungen.

II. In-vitro-Versuche über den Einfluss von Glukose, Fruktose und Methylenblau auf die elektrochemisch gemessene Atmungsgeschwindigkeit der Ascitescarcinomzellen.

1. Die Methode der elektrochemischen Sauerstoffmessung.

Die elektrochemische Sauerstoffmessung auf polarographischem Wege ist bereits mehrere Jahrzehnte alt. Die Polarographie besteht in der Aufnahme von Stromspannungskurven an einer tropfenden Quecksilberelektrode. An der ständig sich erneuernden Quecksilberoberfläche findet eine kathodische Abscheidung statt, wobei die Stromstärke bei einem geeigneten Potential ein Maß für die Konzentration des abgeschiedenen Stoffes ist. Man bestimmt auf diese Weise beispielsweise die Konzentration an gelösten Metallionen,

aber auch an gelöstem Sauerstoff, da der Sauerstoff wie Metallionen kathodisch reduzierbar ist.

Die polarographische Sauerstoffbestimmung wurde von PETERING und DANIELS [5] zum Studium der Photosynthese und Atmung von Grünalgen (Chlorella pyrenoidosa) verwandt, sowie der Atmung von Hefe, Blutzellen und menschlichem Gewebe. Durch diese Untersuchungen wurde festgestellt, dass die polarographische Methode der klassischen Manometrie und der Winkler'schen Sauerstoffbestimmung überlegen ist, und zwar besonders bei geringen Sauerstoffänderungen. Die Zellatmung von Pflanzenwurzeln wurde polarographisch von WANNER [6] gemessen, indem der Betrag der Sauerstoffdiffusion durch die Flüssigkeitsschicht in Berührung mit den Wurzeln bestimmt wurde. BLINKS und SKOW [7] benutzten die Tropfelektrode sowie eine Platinmikroelektrode zur Sauerstoffmessung bei der Photosynthese, BAUMBERGER [8] beschäftigte sich mit dem Verhältnis des Sauerstoffverbrauchs von Hefe zum Redoxpotential. BEECHER, FOLLANSBEE, MURPHY und CRAIG [9] entwickelten eine Technik für polarographische Sauerstoffmessungen in 1 ml Proben von Lymphe und anderen biologischen Flüssigkeiten. Methoden zur Sauerstoffbestimmung im Blutplasma beschrieben BERGGREN [10] und WIESINGER [11].

Eine Sauerstoffbestimmung durch Aufnahme von Stromspannungskurven führten KOLTHOFF und LAITINEN [12] durch. Sie stellten fest, dass für diesen Zweck eine feste Elektrode der tropfenden Quecksilberelektrode überlegen ist und verwandten daher einen Platindraht (Durchmesser 0,5 mm, Länge 4 mm). Bei Luftsättigung fanden sie mit dieser Elektrode in Ruhe 3,5 Mikroampere und bei einer Rotation der Platinelektrode mit 600 Umdrehungen pro Minute 60 Mikroampere. Pro mm Elektrodenoberfläche sind das bei starker Bewegung 10 Mikroampere. Die in der vorliegenden Arbeit benutzte elektrochemische Sauerstoffmessung unterscheidet sich von der Polarographie, abgesehen von der Verwendung fester Elektroden, dadurch, dass man keine Spannungsquelle benötigt und die Stromlieferung eines galvanischen Elements für die Sauerstoffmessung heranzieht.

Man erzielt so eine wesentliche Vereinfachung. [4] Es handelt sich bei dieser elektrochemischen Sauerstoffmessung um die Feststellung eines Grenzstromes, bei welchem die Diffusion des Sauerstoffs an die edlere Elektrode als langsamster Vorgang geschwindigkeitsbestimmend ist. Daher hängt die Stromstärke nur von der Sauerstoffdiffusion ab. Eine konstante Diffusionsgeschwindigkeit, erreichbar durch eine genügend schnelle und konstante Magnetrührung, ist daher die erste Voraussetzung für eine quantitative und reproduzierbare Sauerstoffmessung.

Eine direkte potentiometrische Sauerstoffmessung scheitert daran, dass an einer Sauerstoffelektrode (z.B. an einer in einem sauerstoffhaltigen Elektrolyten getauchten Platin-Elektrode) sich kein konstantes Potential einstellt. Dagegen ist die Stromlieferung galvanischer Elemente für quantitative Sauerstoffbestimmungen verwendbar, wenn durch entsprechende Wahl der Versuchsbedingungen der einzige stromliefernde Vorgang die Reduktion des gelösten Sauerstoffs an der edleren Elektrode ist. Diese kathodische Sauerstoffreduktion wird in der Elektrochemie als Depolarisation bezeichnet. Der primäre Vorgang besteht darin, dass sich das unedlere Metall des galvanischen Elements unter Bildung von Metallionen auflöst und die hierbei freigewordenen Elektronen an der edleren Elektrode den Sauerstoff reduzieren. (Neutralisation der kathodisch abgeschiedenen Wasserstoffionen zu atomarem Wasserstoff, welcher den Sauerstoff reduziert oder OH-Ionenbildung aus Elektronen, Sauerstoff und Wasser). Für die Praxis der elektrochemischen Sauerstoffmessung kann der Mechanismus der kathodischen Sauerstoffreduktion als bedeutungslos angesehen werden. Wesentlich ist nur, dass zwischen dem elektrochemischen Sauerstoffumsatz und der gemessenen Stromstärke tatsächlich eine exakte und reproduzierbare Beziehung besteht. Das trifft zu, wenn die folgenden Bedingungen eingehalten werden.

Das Kathodenpotential darf nicht so unedel werden, dass eine Stromlieferung durch eine direkte Wasserstoffentwicklung eintreten kann. Die auf die Normalwasserstoffelektrode bezogenen Grenzpotentiale, bei denen nach der Spannungsreihe

theoretisch eine gasförmige Wasserstoffentwicklung gerade eben beginnen kann, ergeben sich durch Multiplikation des pH-Werts der zu messenden Lösung mit 58 Millivolt. Bei einem pH-Wert 7 ist man also bei Kathodenpotentialen, die edler sind als 7 x 58 = 406 Millivolt (bezogen auf das Normalwasserstoffpotential) absolut sicher vor zu hohen Strömen infolge von Wasserstoffentwicklung. Eine Überspannung verschiebt dieses Grenzpotential nach der unedleren Seite. Eine gleiche Verschiebung tritt dadurch ein, dass durch den kathodischen Strom die Lösung unmittelbar an der Elektrodenfläche alkalisch wird.

Das Potential der Sauerstoffmesselektrode muss immer so gross bleiben, dass ein für die Messung ausreichender Sauerstoffstrom fliessen kann. Das ist dann der Fall, wenn die Anode genügend unpolarisierbar bleibt, also sich nicht im Laufe der Zeit veredelt. Weiterhin dürfen keine Ionen mit kleiner Abscheidungsspannung wie z. B. Kupferionen, anwesend sein, da diese eben neben dem Sauerstoffstrom einen zusätzlichen Strom bewirken. Die Messung muss ferner unabhängig vom pH-Wert sowie von der Anwesenheit irgendwelcher im Elektrolyten gelösten Substanzen verlaufen, was innerhalb sehr weiter Grenzen der Fall ist. Schliesslich müssen die Elektroden so ausgewählt sein, dass eine lineare Beziehung zwischen abgelesener Stromstärke und Sauerstoffkonzentration vorhanden ist. Diese verschiedenen Voraussetzungen für das Gelingen der elektrochemischen Sauerstoffmessung lassen sich, wie gezeigt werden soll, überraschend leicht erfüllen. Um genügend schnell und genau arbeiten zu können, erwies sich gegenüber anderen bisher für elektrochemische Sauerstoffmessungen benutzten Elektroden, wie Platin, Gold, Nickel und Silber, das Goldamalgam als Messelektrode wegen der schnellen Einstellung der Messwerte am geeignetsten. Als Anode (unedlere Elektrode) diente Zink in einer durch ein Diaphragma abgetrennten gesättigten Lösung von Kaliumchlorid. Die Messungen wurden in Glasgefässen durchgeführt. Die Elektroden sowie eine Aufsatzbürette zur Zugabe der Kultur und der Zusätze wurden durch Glasschliffe auf das Messgefäss aufgesetzt. Das Mess-

gefäss war in einer Wanne angebracht, durch welche Wasser von 37° C als Temperierflüssigkeit strömte. Die Erzeugung der für genaue Messungen erforderlichen konstanten Elektrolytbewegung geschah durch ein mit Kunststoff bespanntes am Boden des Messgefässes liegendes Magneteisenstäbchen, welches durch einen mit 1000 Touren rotierenden Magneten in genügend schnelle Drehung versetzt wurde. In die auf den Magneten aufgesetzte Temperierwanne wird das Messgefäss konzentrisch eingesetzt. Während der Ablesung der Atmung, deren Grösse durch den Stromrückgang des an die Elektrode angeschlossenen Mikroamperemeters beliebig oft abgelesen werden kann, wurde in gewissen Zeitabschnitten eine Reihe von Eichungen vorgenommen. Diese bestanden darin, dass durch die Aufsatzbürette bekannte Mengen luftgesättigter Lösung, also bekannte Sauerstoffmengen, hinzudosiert wurden.[4] Das Messinstrument zeigt den durch diese bekannte Sauerstoffmenge erzeugten Stromzuwachs an. Ein methodischer Fehler ist ausgeschlossen, wenn die richtigen Eichwerte erhalten werden.

2. Das Material

Als Versuchstiere verwandten wir weibliche, durchschnittlich 24 g schwere weisse Mäuse, auf die wir einen aus Berlin-Buch stammenden Ascites des EHRLICH'schen Mäuseascitescarcinoms überimpften. Das Futter der Mäuse bestand aus Weizenkörnern, Brot und Gemüseabfällen. Wasser zum Trinken war ausreichend vorhanden.

Das Überimpfen des Tumorascites.

Es wurden 0,25 ccm Ascites mit 0,75 ccm steriler Ringerlösung aufgezogen und unter sterilen Kautelen den Mäusen intraperitoneal gespritzt. Etwa 10 Tage danach wurde der Ascites den Mäusen wieder entnommen, die die grösste Gewichtszunahme bzw. Ascitesmenge hatten. In diesen 10 Tagen nahm jede Maus um ca. 6,6 g zu, also in Wirklichkeit um täglich fast 1 g, da man annehmen kann, dass die Ascitesmenge grösser als die tatsächliche Gewichtszunahme ist, weil ja mit dem Anwachsen der Ascitesmenge eine Ab-

nahme des reellen Körpergewichtes einhergeht. Zusätzlich tritt praefinal ein vermehrter Zerfall von Asciteszellen auf, durch den die Mäuse dann an Gewicht abnehmen (vergl. die Untersuchungen von HUTH).

Die Untersuchungen wurden an 32 Mäusen durchgeführt, von denen 11 zweimal punktiert wurden, und zwar 6 einen Tag nach der ersten Messung, 4 zwei Tage danach und eine Maus 6 Tage später. Die übrigen Mäuse verstarben bevor sie zum zweiten Male punktiert werden konnten. Wir konnten feststellen, dass die Mäuse am widerstandsfähigsten waren, und am längsten am Leben blieben, deren Gewicht um 20 g lag. Die Mäuse, die 25 g oder noch mehr wogen, starben eher. Diese Feststellung stimmt mit den Untersuchungen von POTTER überein, auf die später noch eingegangen wird.

Die Abnahme des Ascites für die Messungen.
Für die Messungen wurden die Mäuse benutzt, die die grösste Ascitesmenge bzw. grösste Gewichtszunahme hatten. Wir zogen den Tieren unter sterilen Bedingungen den Ascites ab ohne sie zu töten, und zwar soviel wie zu bekommen war. Für die Messungen verwandten wir nur unverdünnten Ascites, der sofort nach der Abnahme in den Versuchskolben eingespritzt wurde.

Die Zählung der Zellen.

Gleichzeitig mit der Abnahme des Ascites für die Apparatur wurde Ascites auf Leuko- bzw. Ery-Zählpipetten aufgezogen und in der Zeiss-Thoma-Kammer anfangs nach Leukozählmethode, später wegen der grossen Anzahl der Zellen, nach Eryzählmethode ausgezählt.

3. Die Befunde

Durch elektrochemische Sauerstoffmessungen an Mäuseasciteskulturen war durch Untersuchungen, die von TÖDT und SEEGER [13] durchgeführt wurden, folgendes festge-

stellt worden:
Der Sauerstoffverbrauch als Mass der Atmungsgeschwindigkeit verläuft beim Ascites ebenso wie bei Hefe, Chlorella usw. Es findet also, wenn man von der Luftsättigung (bei 37°C 6,4 mg O_2/l) ausgeht, ein konstanter Sauerstoffverbrauch bis zu geringen Sauerstoffkonzentrationen, je nach den Versuchsbedingungen bis zu 0,03 bis 0,3 mg Sauerstoff im Liter statt. In gleichen Zeitabschnitten wird hiernach auch beim Ascites die gleiche Sauerstoffmenge unabhängig von der Sauerstoffkonzentration veratmet, die Messungen werden bei geringen Sauerstoffkonzentrationen ausserordentlich empfindlich. Infolgedessen kann man bereits nach 5 Sekunden einen Stromabfall erhalten, welcher mit ausreichender Genauigkeit die Atmungsgeschwindigkeit ergibt. Dadurch ist möglich, mit der Ascitesentnahme einer einzigen Maus mehrere Versuchsreihen durchzuführen, also z. B. bei jeder Versuchsreihe die atmungshemmende oder atmungsbeschleunigende Wirkung verschiedenartiger Zusätze zu messen.
Die elektrochemisch gemessenen QO_2-Werte lagen im Mittel bei etwa 7, jedoch mit erheblichen Abweichungen der Einzelwerte (endogene Atmung). Durch Glukosezusatz sank die Atmung in Übereinstimmung mit der Literatur 16) auf durchschnittlich die Hälfte. Der Zusatz von Fruktose bewirkte eine im Vergleich zur Glukoseatmung bis um das Dreifache verstärkte Atmung.

Es lässt sich durch Zellenzählung sehr schnell und einfach ein Mass für den QO_2-Wert erhalten, da der Sauerstoffverbrauch, ausgedrückt in g pro Minute und 100 Millionen Zellen, den durch Wägung festgestellten QO_2-Wert nach Tabelle 1 ergab. Eine Bestätigung dieses Befundes lieferte eine Dissertation von TRAUTSCHOLD [14], welcher der Tabelle 2 entnommen ist.

Tabelle 1

1 QO_2-Wert	2 Sauerstoff-verbrauch in g pro Minute und 100 Millionen Zellen	3 Verhältnis von O_2-Verbrauch auf 100 Millionen Zellen zum Qo_2	4 Gewicht in mg auf 100 Millionen Zellen
7,5	7,5	1	40
8,3	10	1,2	40
13,3	13,5	1	42
10,3	13,3	1,3	52
7,3	4,9	0,67	28,4
5,5	6,5	1,16	51
9,3	9,3	0,96	50
9,3	6,2	0,67	28,8
Mittelw. 8,85		1,0	

Tabelle 2

1 QO_2-Wert	2 Sauerstoffverbrauch pro Minute und 100 Millionen Zellen	3 Verhältnis QO_2-Wert zum Sauerstoffverbrauch
6,8	7,17	0,95
11,7	9,90	1,18
8,9	11,0	0,81
10,3	9,45	1,09
9,0	7,7	1,17
11,2	11,3	0,99
8,3	7,15	1,16
9,45	9,09	1,05

Mit steigender Zellzahl sanken im Durchschnitt die QO_2-Werte ab und umgekehrt [13]. Bereits hierdurch ist wahrscheinlich gemacht, dass die elektrochemisch gefundenen QO_2-Werte zur physiologischen Beurteilung brauchbar sind. Diese Schlussfolgerung konnte durch Versuche von TÖDT in Gemeinschaft mit LAMPRECHT und TRAUTSCHOLD [4] weiterhin gestützt werden. Die QO_2-Werte zeigten sehr grosse Unterschiede. Während man bisher in der Literatur Angaben zwischen etwa QO_2 3 und 15 findet, konnten durch bestimmte Zusätze, und zwar besonders durch die Kombination einer Säure mit einem Farbstoff und l-Ascorbinsäure in Einzelfällen Werte von QO_2 30 und mehr erhalten werden. Aus diesem extrem hohen Wert wird der Schluss gezogen, dass es sich hierbei um Normalzellen, bzw. bis zur Normalatmung normalisierte Zellen handelt. Die Ergebnisse WARBURGS [15], nach denen der QO_2-Wert als ein brauchbares Mass für die Virulenz von Asciteszellen angesehen werden kann, stehen mit diesen Resultaten in Einklang. Neu dagegen war die im Hinblick auf therapeutische Probleme wichtige Feststellung, dass eine Atmungssteigerung durch Zusätze in einem unerwartet hohen Umfange erzielt werden konnte. Sowohl bei den Versuchen von TÖDT und SEEGER als auch bei denjenigen von TÖDT, LAMPRECHT und TRAUTSCHOLD wirkte in fast allen Fällen die Glukose stark atmungshemmend, die Fruktose dagegen nicht. Von anderen Bearbeitern wurde dieser Unterschied nicht festgestellt [16].

Bei den im folgenden beschriebenen weiteren Untersuchungen wurden die Methoden der Durchführung beibehalten: Elektrochemische Messung des Sauerstoffverbrauchs der Mäuseasciteskrebskulturen, Suspendierung des Ascites in isotonischer Phosphatpufferlösung bei 37° und pH 7,3, Auswertung durch Zellzählung, Messgefäss 50 ccm Inhalt und galvanischem Element, bestehend aus Goldamalgam und Zink. In einer Anzahl von Versuchen wurden die Tiere nicht, wie üblich, vor der Ascitesentnahme getötet, sondern weiter be-

obachtet und nach 1 bis mehreren Tagen nochmals gemessen. Die Ergebnisse, die in der folgenden Tabelle 3 aufgeführt sind, zeigen, dass bei der zweiten Untersuchung die Zellkonzentration der Asciteszellen mehr oder weniger abgesunken und der QO_2-Wert entsprechend erhöht war. Es wurde zuerst der Sauerstoffverbrauch gemessen, welcher unmittelbar nach Zugabe des Ascites in dem Messgefäss stattfand (endogene Atmung). Anschliessend wurde der Sauerstoffverbrauch nach Glukosezugabe festgestellt.

Tabelle 3

Änderung des QO_2-Wertes und der Zellkonzentration bei mehrfacher Ascitesentnahme bei einer Maus. +)

Nr.	QO_2-Wert bei der ersten Entnahme		QO_2-Wert bei der zweiten Entnahme		Zeit in Tagen zwischen d. 1. u. 2. Entnahme	Millionen Zellen /ml bei der 1. und 2. Entnahme	
						1	2
1	10,5	6-5 G	27-20	18 G	1	42	18
2	15	11-10G	42	42 G	2	35	13
3	7-6	3 G	12-8	9-8 G	1	84	70
4	11	6 G	15	15-11G	2	60	55
5			12-10	10 G	6	85	35
6	8-6	4-3 G			1	63	50
7	6,5	4 G	8	8 G	1	130	90
8	9	8 G			2	121	25
9	3	2,7 G			2	116	81
10	-	3 G	12	12 G	2	181	50
11	10	10 G	8	6 G	2	91	142

+) Die QO_2-Werte mit dem Buchstaben G sind die Werte nach Glukosezusatz, die anderen QO_2-Werte sind ohne Zusatz gemessen (endogene Atmung).

Besonders auffallend sind die zwei in der Tabelle 3 zuerst aufgeführten Fälle, bei denen die Zellkonzentrationen, obwohl sie bereits verhältnismässig niedrig lagen, noch auf die Hälfte zurückgingen. Überraschend stark ist der hiermit verbundene Anstieg der QO_2-Werte. Im ersten Fall bei der ersten Entnahme QO_2 endogen 6-7, mit Glukose 5-6, bei der zweiten Entnahme endogen 20-27, mit Glukose 18. Noch grösser sind die Unterschiede in dem zweiten Fall der Tabelle 3, hier haben wir bei der ersten Entnahme QO_2-Werte endogen 15, mit Glukose 10-11 und bei der zweiten Entnahme mit und ohne Glukose einen QO_2-Wert von 40. Dies ist der höchste überhaupt gefundene QO_2-Wert, der so hoch liegt, dass man die Atmung als total normalisiert bezeichnen kann. Bei dem letzten Fall der Tabelle 3 ist im Gegensatz zu allen anderen Fällen die Zellkonzentration nicht gesunken, sondern stark angestiegen, entsprechend sind auch die QO_2-Werte nicht, wie in den anderen Fällen angestiegen, sondern verringert. Jedenfalls lässt das Zahlenmaterial eine eindeutige Beziehung zwischen verringerter Zellkonzentration und erhöhtem QO_2-Wert erkennen. Dass hierbei eine erhebliche Schwankungsbreite vorhanden ist, dürfte auf die naturgegebenen biologisch-individuell bedingten Verschiedenheiten der untersuchten Einzelindividuen zurückzuführen sein. Die Tatsache, dass bei der zweiten Entnahme eine signifikante Herabsetzung des "Krebsstoffwechsels" gefunden wurde, kann kaum anders gedeutet werden, als dass durch die gewissermassen operative Entfernung der Hauptmasse der Krebszellen die Abwehrkräfte in der Lage waren, die Virulenz erfolgreich zu schwächen. Messungen an 30 Mäusen sind, nach QO_2-Werten geordnet, in der Tabelle 4 enthalten.

Tabelle 4

Zellkonzentrationen und QO_2-Werte von Mäuseasciteskrebszellen ohne (E) und mit 0,1 % Glukosezusatz (G), nach QO_2-Werten geordnet.

Nr.	Zellen 10^6/ml	Zellen 10^6 insges.	QO_2 E	QO_2 G	Tag der Entnahme nach der Injektion
1	13		30-40	30-40	10
2	37	300	31	40-28	6
3	41	200	24	24-16	5
4	22	22	20	18-10	1
5	18		27-20	18	24
6	100	200	15	12-7	13
7	59	410	9	15-9	6
8	55		16	15-11	10
9	91	450	10	10	9
10	90	360	8	8	13
11	43	390	15	11-8	9
12	61	670	13	13-8	11
13	115	460	16	9	8
14	34(vor 6 Tg.85)		12-10	10	7
15	63	500	10	9	7
16	68	680	1 5-11	8	10
17	121	720	9	8	6
18	70		12-8	9-8	24
19	63	630	10	7-5,5	10
20	78	700		6,5	6
21	85	680	8	7-5	8
22	142		8	6	11
23	59	320	9	6-4,5	6
24	42	380	10,5	6,5	23

Fortsetzung Tabelle 4

Nr.	Zellen 10^6/ml	Zellen 10^6 insges.	QO_2 E	QO_2 G	Tag der Entn. nach der Inj.
25	88	710	10	10-5	10
26	60	510	6	4	8
27	143	720	3,8	4	6
28	82	1000	8	3,5	11
29	116	350	3	2,7	6
30	181	1008		2,5	9

Man kann der Tabelle 4 zunächst nur einen sehr rohen Zusammenhang zwischen Zellzahl, bzw. Zellkonzentration und QO_2-Wert entnehmen. Zwar liegen bei sehr geringen Zellkonzentrationen die QO_2-Werte sehr hoch und umgekehrt. So liegt oberhalb von QO_2 =20 das Verhältnis zwischen Zellkonzentration und QO_2-Wert etwa zwischen 3 : 1 und 1 : 1 und bei QO_2-Werten von 4 und darunter ungefähr zwischen 50 : 1 und 30 : 1. Trotzdem zeigt die Tabelle 4, dass im ganzen gesehen von einer auch nur annähernd konstanten Beziehung keine Rede sein kann, wenn man eine grössere Anzahl von Individuen vergleicht. Dazu ist offenbar schon der zeitliche Verlauf der Ascitesentwicklung bei den einzelnen Tieren zu verschieden. Bei Nr. 4 fand die Ascitesentnahme nach einem Tag statt. Hier liegen die QO_2-Werte sehr hoch, die Zellkonzentration ist noch sehr gering, so dass die hohen QO_2-Werte möglicherweise durch die bei der geringen Zellzahl günstige Wirkung der Abwehrkräfte bedingt sind. Ähnlich liegt der Fall bei Nr. 5. Hier ist zwar die Gesamtheit nach der Krebsbeimpfung 24 Tage, aber es handelt sich um die zweite Entnahme, nachdem nach 23 Tagen QO_2 E = 10,5 und QO_2 G = 6,5 gefunden war. Also haben auch in diesem Fall

innerhalb eines Tages offenbar die Abwehrkräfte des Tieres bei der jetzt kleinen Zellzahl eine Verdoppelung des QO_2-E und eine Verdreifachung des QO_2-G bewirkt.

Wie die Tabelle 4 erkennen lässt, ist zwar in der grösseren Anzahl der Fälle durch Glukose eine Erniedrigung des QO_2-Wertes bis auf die Hälfte erfolgt. Jedoch in einer Reihe weiterer Fälle ist dies nicht der Fall. Dieser Befund klärt die Widersprüche in der Literatur. Die meisten Autoren finden eine Erniedrigung durch Glukosezusatz, jedoch andere wiederum nicht. Dies hängt nach Tabelle 4 offenbar mit naturgegebenen biologischen Verschiedenheiten der Tiere zusammen, wie überhaupt aus der Tabelle 4 eine ausserordentlich grosse Schwankungsbreite (QO_2 40 bis QO_2 2,5) zu ersehen ist.
Der Einfluss von Glukose, Fruktose und Methylenblau ist in der Tabelle 5 wiedergegeben.

Tabelle 5

Einfluss von 0,1 % Glukose (G), Fruktose (F) und 0,0004 % Methylenblau (MB) auf den QO_2-Wert von Mäuseasciteskrebszellen.

Nr.	Zellen		QO_2E	QO_2G	QO_2F	QO_2MB	
	10^6/ml	insgesamt				G	F
1	78	700	6	6,5		8	
2	39,5	320	9	6-4,5		9-7	
3	38	304	31	40-28		27-20	
4	82	1006	8	3,5		7-9	
5	85	680	8	7-5		9-11	
6	50		13	13		11	
7	142		8	6		5,5	
8	63	630	7-10	7-5,5	5	9	30
9	43	390	15	11-8	15-12	13	16
10	24	24	20	18-10	16-13	20	20

Um die Vergleichswerte zwischen Glukose und Fruktose zu erhalten, mussten die Versuche 8, 9 und 10 der Tabelle 5 mit zwei Apparaturen durchgeführt werden. Von der Ascitesskultur wurde gleichzeitig in jedes der beiden Messgefässe die gleiche Menge Ascites gegeben, nach Feststellung der endogenen Atmung in das eine Gefäss Fruktose und das andere Glukose zugesetzt und schliesslich nach Messung der Glukose- und Fruktoseatmung in jedes Gefäss der Methylenblauzusatz gemacht. Wie man sieht, bewirkt in den meisten Fällen Methylenblau eine erhebliche Erhöhung der QO_2-Werte. Nur bei Nr. 3 und 6 ist das Gegenteil der Fall, was vielleicht damit zusammenhängt, dass in diesen beiden Fällen die QO_2-Werte bereits vor dem Zusatz hoch liegen (13 und 30).
Nach Versuch 8 und 9 wirkt sich die Kombination Fruktose-Methylenblau besonders günstig aus. Versuch 10 zeigt diesen Effekt nicht, vielleicht deswegen, weil bei diesem Versuch die Entnahme einen Tag nach der Beimpfung erfolgte und daher die Zellzahl extrem gering war.

In einer grösseren Anzahl von Fällen wurden während der Versuchszeit bis zu 10 Proben zur Bestimmung von ATP, Brenztraubensäure und Milchsäure entnommen. Aus den ATP und Brenztraubensäurewerten liess sich keine Gesetzmässigkeit erkennen. Die Änderungen betrugen ausserdem weniger als 1 % der aus den Atmungsgrössen geschätzten Umsätze, so dass von einer Auswertung keine Schlussfolgerungen zu erwarten waren. Die gefundenen Milchsäureänderungen lagen dagegen in der erwarteten Grössenordnung von etwa 40 mg anaerob und 20 mg aerob pro ml Ascitesflüssigkeit und Stunde. Es zeigte sich jedoch, dass ausser der Bildung von Milchsäurekonzentration, also ein Verschwinden der Milchsäure stattfand. Dabei wird die Milchsäurekonzentration in den meisten Fällen auf einer mittleren Milchsäurekonzentration von etwa 100 bis 150 ml Ascitesflüssigkeit gehal-

ten, ein Verhalten, das beim Mäuseascites in vivo bekannt ist [17]. Es ergeben sich daher nach besonders hohen Milchsäurebildungen annähernd ebenso grosse Milchsäureabnahmen. Aus diesem Grund ist eine quantitative Beziehung zwischen den Änderungen der QO_2-Werte und den gleichzeitigen Änderungen der Milchsäurebildung nicht zu erhalten, weshalb von einer Wiedergabe der gemessenen Werte Abstand genommen wurde.

Es sei nur ein besonders markanter Fall herausgegriffen.

Bei Nr. 8 der Tabelle 5 war nach Glukose und Methylenblauzusatz bei stark verringerter Sauerstoffkonzentration die Atmung so langsam geworden, dass während etwa 15 Minuten ein sehr geringer Sauerstoffverbrauch vorlag. Während dieser Zeit ergab sich ein extrem hoher Milchsäurezuwachs von 11 mg, der dem durch die sehr geringe Atmung verursachten Energiedefizit entspricht, wenn man das Verhältnis der Energielieferung von Atmung und Glukolyse = 16 : 1 annimmt. Wird jetzt der Sauerstoffgehalt bei gleichzeitigem nochmaligem Methylenblauzusatz erhöht, so tritt wieder eine starke Atmung ein und die gebildeten 11 mg verschwinden wieder. Dieser Effekt war beim Fruktosezusatz zur gleichen Asciteskultur nicht vorhanden, offenbar weil mit Fruktose die starke Atmungsverringerung bei verringertem Sauerstoffgehalt nicht eintrat. Im grossen und ganzen zeigte sich, dass immer dann, wenn eine Herabsetzung der Atmung durch Glukosezusatz oder auch durch Methylenblau eintrat, eine vermehrte Glykolyseneigung beobachtet wurde. Umgekehrt ging die Glykolyse zurück, wenn bei Glukosezusatz die Atmung nicht verringert oder wenn durch Methylenblau die Atmung gesteigert wurde. Wegen des beschriebenen zeitweiligen Abnehmens der Milchsäure war dieser Befund jedoch nur qualitativ, nicht aber quantitativ.

III. In-vivo-Versuche.

1. Befunde.

Aus den gesamten bisher vorliegenden Messungen des Sauerstoffverbrauchs von Mäuseasciteskrebskulturen ergibt sich, dass gewisse Zuätze, wie Methylenblau, Ascorbinsäure und Fruktose im Sinne einer starken Erhöhung der Atmung zu wirken scheinen. Es wurden daher 36 Mäusen bei der Ascitesinjektion diese 3 Substanzen mitinjiziert, bei 10 Mäusen die 3 Substanzen erst am 3., 6. und 10. Tag nach der Ascitesinjektion gespritzt und bei 10 Mäusen erst am 4. Tag nach der Ascitesbeimpfung die 3 Substanzen appliziert. Hierbei enthielt 1 ml injizierte sterile Ringerlösung ausser der Asciteskultur (0,25 ml) 50 mg Lävulose, 5 mg Vitamin C und 0,5 mg Methylenblau. Gleichzeitig wurden 96 Vergleichsmäuse nur mit Ascites beimpft. Das Ergebnis ist in den Tabellen 6 - 9 enthalten.

Tabelle 6

Gewichtszunahme von 96 normal mit Ascites injizierten Mäusen.

Nr.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.
	Tage																		
1	20	20	20	21	21	20	21	24	25	27	28	29	30	30	31	33	+		
2	21	21	21	22	21	21	21	23	24	26	27	29	30	30	31	34	35	+	
3	20	21	22	23	25	26	25	26	27	27	28	+							
4	18	18	18	19	19	19	19	20	21	22	22	24	25	24	22	+			
5	20	20	20	21	21	21	23	24	25	27	28	29	30	30	30	30	+		
6	22	21	22	22	21	21	22	20	17	+									
7	19	19	20	20	20	20	20	19	18	16	+								
8	24	25	25	26	27	28	30	32	31	31	31	31	+						
9	18	17	17	18	20	22	24	25	25	24	+								
10	22	22	22	23	23	25	25	25	26	25	26	26	+						
11	26	27	26	27	29	30	32	33	35	37	38	38	+						
12	22	21	21	20	21	20	+												

Fortsetzung Tabelle 6

Gewichtszunahme von 96 normal mit Ascites injizierten Mäusen.

Nr.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.
									Tage										
13	23	24	23	24	26	28	30	31	34	36	37	38	+						
14	18	19	18	18	18	18	18	18	18	19	19	20	20	19	18	18	18	18	+
15	19	19	18	19	20	21	22	24	25	26	26	26	24	+					
16	20	+																	
17	20	20	19	19	20	19	+												
18	21	22	21	21	20	20	21	20	+										
19	20	21	21	21	22	22	24	26	27	27	27	28	29	29	29	28	28	27	+
20	18	20	20	20	20	21	21	22	21	21	22	24	24	24	23	23	22	21	24 +
21	23	24	23	24	24	25	26	28	28	28	28	29	30	29	+				
22	22	24	24	25	25	26	27	28	28	27	26	25	26	+					
23	20	21	22	24	26	28	29	31	33	31	30	+							
24	24	25	25	26	27	30	32	33	35	35	34	33	34	34	+				
25	19	20	21	22	22	24	26	27	27	26	25	25	25	25	+				
26	23	23	25	27	28	32	34	36	37	37	36	36	+						
27	29	30	30	31	32	34	35	37	41	46	49	51	49	+					
28	22	22	23	22	23	24	25	25	26	26	26	23	+						
29	23	24	24	24	24	23	23	24	25	27	29	30	+						
30	31	33	34	35	37	39	42	45	50	54	55	56	50	49	+				
31	25	25	27	27	28	29	30	31	32	33	34	36	36	36	+				
32	24	24	24	24	26	26	27	29	30	32	33	33	33	+					
33	22	22	23	24	25	26	27	27	28	30	30	30	+						
34	23	25	25	24	25	26	27	27	28	30	31	32	32	31	30	30	+		
35	25	27	27	27	28	29	30	31	31	31	32	30	30	30	+				
36	24	24	25	25	27	28	29	30	30	31	32	34	35	35	35	+			
37	27	28	28	28	29	29	30	30	30	31	31	35	37	40	43	+			
38	22	21	21	22	22	23	23	24	24	24	25	27	27	29	31	27	+		

Fortsetzung Tabelle 6

Gewichtszunahme von 96 normal mit Ascites injizierten Mäusen.

Nr.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.	21.
										T a g e											
39	22	21	21	22	23	23	24	25	25	26	26	28	30	30	+						
40	24	24	25	25	26	25	25	25	25	26	26	27	27	28	+						
41	23	24	24	25	26	27	28	29	31	32	33	35	35	35	+						
42	33	34	32	32	35	38	40	41	42	40	41	+									
43	28	29	28	29	31	33	34	36	37	37	37	+									
44	20	20	20	20	22	23	24	24	22	+											
45	20	20	19	20	21	23	24	25	25	24	24	+									
46	24	24	25	24	24	25	25	27	28	28	28	+									
47	31	32	33	33	34	35	37	38	40	40	40	40	41	41	41	+					
48	38	41	42	45	46	46	46	48	50	50	50	50	+								
49	28	30	30	31	31	32	34	34	35	35	34	35	35	36	36	+					
50	41	42	41	45	48	50	53	56	58	60	60	60	60	60	59	+					
51	40	42	42	45	45	44	41	39	+												
52	31	31	30	32	33	34	35	36	36	37	38	37	+								
53	32	31	32	34	33	34	36	38	39	40	42	42	41	40	40	+					
54	37	37	36	38	39	40	42	43	44	45	47	46	46	45	45	+					
55	23	24	24	24	23	24	25	27	29	30	31	31	30	29	29	+					
56	20	19	19	20	20	20	20	21	22	23	24	25	26	26	26	26	26	26	+		
57	24	24	25	26	25	25	26	29	31	33	34	36	+								
58	17	17	17	19	17	18	19	20	21	22	23	24	25	23	22	22	+				
59	21	22	21	22	21	22	23	24	25	25	25	24	+								
60	20	20	20	21	21	22	22	23	24	25	25	24	24	24	24	24	22	+			
61	23	24	24	25	24	25	26	27	29	30	30	30	+								
62	20	21	21	22	21	22	22	22	24	24	24	24	+								
63	21	22	22	24	23	23	23	24	26	27	27	27	28	29	29	29	28	+			
64	20	21	20	20	20	21	21	22	23	24	26	28	30	33	34	35	36	37	+		
65	19	19	18	19	20	21	21	21	21	20	21	+									
66	14	14	13	13	13	13	13	14	14	14	14	+									
67	17	19	18	18	19	20	20	20	20	21	22	23	23	24	25	26	27	28	29	30	+

Fortsetzung Tabelle 6

Gewichtszunahme von 96 normal mit Ascites injizierten Mäusen.

Nr.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.	21.
										T a g e											
68	19	20	20	21	21	22	23	25	26	27	28	29	30	30	30	31	+				
69	20	20	20	21	23	25	25	26	26	+											
70	21	22	22	23	25	25	25	25	25	25	25	+									
71	28	30	31	33	36	40	40	39	38	38	39	38	38	+							
72	17	17	17	16	16	17	17	18	19	19	19	20	21	18	17	16	+				
73	27	28	28	28	29	30	31	31	31	32	32	32	31	+							
74	25	26	27	26	26	27	27	27	28	29	29	30	30	31	34	36	+				
75	18	19	19	18	19	20	20	20	20	20	21	20	19	+							
76	24	25	26	26	28	30	32	35	36	37	34	34	34	31	+						
77	24	25	25	24	25	25	25	26	26	26	27	28	29	30	30	30	+				
78	26	27	28	28	29	31	33	35	36	37	38	36	34	31	30	31	+				
79	24	25	25	24	24	25	25	25	26	26	26	26	26	28	29	30	29	+			
80	27	28	28	27	29	30	31	32	32	32	34	34	34	+							
81	20	21	22	21	22	23	24	24	24	25	24	25	+								
82	20	21	22	24	25	27	30	33	35	36	37	36	37	+							
83	17	17	18	18	19	20	21	17	+												
84	16	16	16	17	18	20	21	24	26	27	28	28	29	29	29	30	+				
85	17	18	18	20	21	22	24	22	21	21	20	+									
86	16	16	16	17	17	18	20	22	21	20	19	18	17	16	17	18	20	21	21	+	
87	19	18	17	18	18	19	20	21	23	25	26	25	26	26	27	+					
88	21	21	21	22	22	23	22	24	25	26	27	28	27	28	+						
89	17	16	17	17	17	18	19	18	19	20	20	21	20	20	21	+					
90	16	15	15	16	16	17	18	18	18	19	20	21	20	20	+						
91	20	20	20	20	20	21	20	21	22	23	24	24	24	24	26	26	26	+			
92	20	19	20	20	21	23	25	26	27	28	28	+									
93	18	18	18	18	17	17	17	16	17	18	19	+									
94	34	35	36	36	35	36	37	39	40	41	43	44	44	43	+						
95	26	28	30	30	30	31	29	30	31	32	34	35	35	+							
96	21	21	22	23	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	21	22	22	22	23	23	24	25	24	25	25	25	25	+

Tabelle 7

Gewichtszunahme von 36 Mäusen, bei denen mit der Ascitesinjektion Methylenblau, Fruktose und Ascorbinsäure injiziert wurde.

Nr.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	Tage
1	23	22	22	23	23	21	22	23	24	24	24	24	24	23	24	26	24	24	+
2	24	22	22	22	23	23	23	24	25	25	25	24	25	25	25	27	27	27	+
3	17	16	16	18	18	17	17	18	18	18	18	18	19	19	19	20	20	20	+
4	21	21	21	21	22	22	22	22	22	21	+								
5	21	20	20	20	20	+													
6	20	20	19	19	20	20	21	21	22	21	22	22	24	24	24	24	24	24	+
7	22	21	21	21	21	21	23	23	23	22	22	22	23	23	23	24	25	25	+
8	26	26	27	27	28	29	30	30	31	31	30	31	32	32	32	34	34	35	+
9	21	20	21	21	21	21	23	23	23	22	21	21	22	21	21	22	22	22	+
10	21	21	21	21	22	22	23	23	24	22	21	21	21	21	21	22	21	20	+
11	22	22	22	22	22	22	22	22	23	23	23	23	24	24	24	24	24	24	+
12	21	22	22	21	21	21	22	21	21	21	21	22	22	23	+				
13	24	25	24	24	25	25	25	25	25	25	25	24	24	24	25	26	26	26	+
14	19	20	20	20	21	21	22	23	22	22	22	22	23	24	25	25	25	25	+
15	21	21	+																
16	18	18	+																
17	24	25	24	24	24	25	25	+											
18	24	24	24	23	23	22	23	24	24	24	25	27	29	30	30	30	+		
19	22	23	23	24	24	25	25	25	25	25	25	26	26	26	28	27	27	27	+
20	22	22	22	19	18	18	17	+											
21	20	21	21	22	22	23	23	22	23	23	24	25	25	25	25	+			
22	24	24	+																
23	24	25	25	24	24	25	25	+											
24	22	+																	
25	22	23	23	22	22	24	24	24	24	23	23	23	23	23	22	22	21	20	+
26	20	+																	
27	21	24	23	22	21	20	20	20	20	20	+								
28	20	21	20	20	19	19	20	20	21	21	22	22	21	+					
29	25	+																	
30	22	24	22	22	22	22	22	22	23	24	25	25	25	25	25	26	26	26	+

Fortsetzung Tabelle 7

Gewichtszunahme von 36 Mäusen, bei denen mit der Ascitesinjektion Methylenblau, Fruktose und Ascorbinsäure injiziert wurde.

Nr.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.
	Tage																	
31	24	25	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	26	27	28	29 +
32	22	23	23	23	23	23	23	23	24	24	24	24	25	25	25	26	26	26 +
33	24	27	26	25	25	25	25	25	26	26	26	26	26	27	27	28	27	27 +
34	25	27	26	26	26	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	24	24	24 23 +
35	25	26	26	25	26	26	27	26	26	27	28	28	28	28	28	28	26 +	
36	17	18	17	18	19	2-o	21	22	23	24	25	25	25	25	25	26	27	26 +

Nr.	19.	20.	21.	22.	23.	24.	25.	26.	27.	28.	29.	30.	31.	32.	33.	34.	35.
	Tage																
1	23	22	22	22	21 +												
2	26	26	26	27	27	29	30	29	28	27 +							
3	19	20	20	20	20	23	24	24	24	24	26	28	28	28 +			
4																	
5																	
6	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	25	25	25	25	25	26	26 +
7	25	25	23 +														
8	37	37 +															
9	21	21	21	21	21	21	22 +										
10																	
11	24	24	23	24	25	25	25 +										
12																	
13	27	26	26	27	28	29	29 +										
14	26	26	25	26	27	27	27 +										
15																	
16																	
17																	
18																	
19	27	26	25	26	25	26	25	25	29	29	32	34	33	32	33 +		
20																	
21																	
22																	

Fortsetzung Tabelle 7

Gewichtszunahme von 36 Mäusen, bei denen mit der Ascitesinjektion Methylenblau, Fruktose und Ascorbinsäure injiziert wurde.

Nr.	19.	20.	21.	22.	23.	24.	25.	26.	27.	28.	29.	30.	31.	32.	33.	34.	35.
	Tage																
23																	
24																	
25	20	19	19	20	19	19	21	20	19	19	19	+					
26																	
27																	
28																	
29																	
30	26	26	26	26	25	24	+										
31	29	30	30	30	31	32	+										
32	26	27	28	28	27	28	28	28	26	24	+						
33	26	27	27	28	28	28	28	28	26	27	28	30	+				
34	22	21	20	20	20	20	20	20	+								
35																	
36																	

Tabelle 8

Gewichtszunahme von 10 Mäusen, denen am 3.,6. und 10. Tag nach der Ascitesbeimpfung je 0,5 ml einer Methylenblau-Fruktose-Ascorbinlösung injiziert wurde.

Nr.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	Tage
1	21	22	22	21	21	22	21	23	23	22	23	24	24	25	25	24	24	+
2	20	21	20	20	21	22	21	21	22	24	24	25	+					
3	21	23	23	22	21	23	24	24	24	24	25	25	24	+				
4	20	21	21	22	22	25	25	25	26	26	26	28	27	27	+			
5	22	24	24	24	24	24	25	26	27	27	27	26	24	+				
6	23	25	25	25	25	26	27	28	27	27	28	26	24	+				
7	23	24	24	24	24	26	26	27	27	28	28	28	+					
8	21	22	22	21	21	22	23	24	25	25	26	27	28	28	27	+		
9	23	24	24	23	24	24	25	27	28	28	25	27	28	30	28	+		
10	25	26	25	25	26	27	29	30	30	29	+							

Tabelle 9

Gewichtszunahme von 10 Mäusen, denen am 4. Tag nach der Ascitesbeimpfung Methylenblau, Fruktose und Ascorbinsäure injiziert wurde.

Nr.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	Tage
1	30	31	30	30	30	30	29	30	32	32	33	34	34	36	37	38	+
2	25	27	28	28	28	25	24	23	24	24	22	23	+				
3	24	25	25	26	25	27	27	28	28	27	26	+					
4	19	21	21	22	22	21	21	22	23	22	22	22	22	23	23	23	+
5	25	25	26	27	27	27	27	27	29	30	31	31	32	33	+		
6	33	36	37	38	35	34	34	34	33	34	34	33	35	36	36	+	
7	26	26	27	28	27	27	28	28	29	28	28	28	28	29	29	+	
8	24	26	26	26	+												
9	22	23	23	24	25	23	22	21	22	21	21	21	21	20	19	+	
10	25	24	25	26	28	29	30	30	30	30	30	29	+				

Die Tabelle 6 ergibt bei den 96 nur mit Ascites beimpften Mäusen die übliche Gewichtszunahme von durchschnittlich 7,9 g pro Maus in durchschnittlich 13,6 Überlebenstagen. Nur eine Maus fällt durch Gewichtsabnahme heraus. Nach dem Tode zeigte sich bei der Sektion bei fast allen Mäusen neben der teilweise erheblichen Ascitesmenge eine ausgedehnte Carcinose des Bauchraumes. Die 36 Mäuse mit gleichzeitiger Zugabe von Methylenblau, Ascorbinsäure und Fruktose weisen dagegen nach einer durchschnittlichen Lebensdauer von 15 Tagen eine durchschnittliche Gewichtszunahme von nur 3,7 g auf. Hier fand sich bei der Sektion fast immer nur der Ascites und nur vereinzelt eine kleinknotige Peritonealcarcinose vornehmlich um den Beimpfungseinstich herum. Nach Tabelle 8 und 9 lebten auch die Mäuse, denen erst am 3., 6. und 10. bzw. erst am 4. Tage nach der Ascitesbeimpfung Methylenblau, Ascorbinsäure und Fruktose gegeben wurde, noch durchschnittlich 13,4 bzw. 13 Tage,

nahmen aber nur durchschnittlich 4,4 g bzw. 3,4 g an Gewicht zu. Auch im Äusseren und im Benehmen war ein Unterschied zwischen den Mäusen, die nur Ascites bekommen hatten und denen, die mit dem Ascites oder später Methylenblau, Ascorbinsäure und Fruktose erhalten hatten, festzustellen. Während die Ersteren schon einige Tage nach der Beimpfung ein struppiges Fell bekamen und unlustig meist in den Ecken des Käfigs herumhockten, behielten die Letzteren ihr glattes Fell bis fast wenige Tage vor dem Tode und vergnügten sich selbst mit Gewichtszunahmen von 10 g in einer kleinen im Käfig aufgestellten Tretmühle. Der Allgemeinzustand konnte also, wie die Tabellen und die Beobachtungen zeigen, gehalten werden, die Gewichtszunahme gesenkt werden, wenn die Tiere die 3 Zusätze bekamen.

Bei einem eingehenderen Vergleich der Tabellen 6 und 7 ergeben sich noch eine Reihe bemerkenswerter Tatsachen.

Bei den 36 Mäusen der Tabelle 7 verläuft die Lebensdauer nach erfolgter kombinierter Injektion völlig anders als bei den nur mit Ascites injizierten Tieren. Die Einzelheiten sind aus der folgenden Tabelle 10 zu ersehen:

Tabelle 10

Vergleich der Lebensdauer nach Injektion von nur Asciteskultur sowie nach der kombinierten Injektion (Ascites und Methylenblau, Vitamin C und Lävulose).

	A = Ascites allein	B = kombiniert
Lebensdauer weniger als	3 Tage A = 1 %	B = 14 %
" " "	8 " A = 3 %	B = 25 %
" mehr "	20 " A = 2 %	B = 50 %
" " "	30 " A = 0 %	B = 10 %.

Der Unterschied der beiden Gruppen ist nach Tabelle 10 äusserst auffallend. Bei der kombinierten Injektion ster-

ben etwa 40 % innerhalb von 9 Tagen, dagegen bei der alleinigen Ascitesinjektion nur 3 %. Umgekehrt leben nach der kombinierten Injektion 60 % länger als 20 Tage, wogegen nach reiner Ascitesinjektion nur 2 % eine 20 Tage überschreitende Lebensdauer aufweisen. Offensichtlich handelt es sich um zwei entgegengesetzte Einflüsse. Die kombinierte Injektion wirkt einmal stark lebensverkürzend, in den meisten Fällen jedoch stark lebensverlängernd.

Die im Hinblick auf das Körpergewicht verhältnismässig hohen Konzentrationen der injizierten Substanzen sind möglicherweise für den hohen Prozentsatz der Todesfälle in den ersten Tagen verantwortlich zu machen. Die meisten Tiere überstehen jedoch nach Tabelle 10 diese Gefahr und zeichnen sich dann gegenüber den nur mit Ascites beimpften Mäusen durch eine wesentlich verlängerte Lebensdauer aus.

In der Tabelle 11 sind die Gewichtszunahmen bis zum 10. Tage bei den nur mit Ascites geimpften Mäusen zusammengestellt.
Tabelle 12 enthält die gleichen Ergebnisse bei kombinierter Injektion.

Tabelle 11

Gewichtszunahmen in Gramm bis zum 10. Tag von 96 nur mit Asciteskultur beimpften Mäusen.

1 = 7	21 = 5	40 = 2	59 = 4	79 = 2
2 = 5	22 = 5	41 = 9	60 = 5	80 = 5
7 = 7	23 = 11	42 = 7	61 = 7	81 = 5
4 = 4	24 = 11	43 = 9	62 = 4	82 = 16
5 = 7	25 = 7	44 = +	63 = 6	83 = +
6 = 5	26 = 14	45 = 4	64 = 4	84 = 11
7 = 3	27 = 14	46 = 4	65 = 1	85 = 4
8 = 7	28 = 4	47 = 9	66 = 0	86 = 4
9 = 6	29 = 4	48 = 12	67 = 4	87 = 6

Fortsetzung Tabelle 11

Gewichtszunahmen in Gramm bis zum 10. Tag von 96 nur mit Asciteskultur beimpften Mäusen.

10 = 3	30 = 23	49 = 7	68 = 8	88 = 5
11 = 11	31 = 8	50 = 19	69 = +	89 = 3
12 = +	32 = 8	51 = +	70 = 4	90 = 3
13 = 8	33 = 8	52 = 6	71 = 10	91 = 3
14 = 1	34 = 7	53 = 8	72 = 2	92 = 8
15 = 7	35 = 6	54 = 8	73 = 5	93 = 0
16 = +	36 = 7	55 = 7	74 = 4	94 = 7
17 = +	37 = 4	56 = 3	75 = 2	95 = 6
18 = +	38 = 2	57 = 9	76 = 3	96 = 1
19 = 7	39 = 4	58 = 5	77 = 2	
20 = 3			78 = 10	

Tabelle 12

Gewichtszunahmen in Gramm bis zum 10. Tag von 36 mit Asciteskultur, Methylenblau, Vitamin C und Lävulose beimpften Mäusen.

1 = 1	9 = 1	17 = +	25 = 1	33 = 2
2 = 1	10 = 1	18 = o	26 = +	34 = 0
3 = 1	11 = 1	19 = 3	27 = 1	35 = 2
4 = 0	12 = 0	20 = +	28 = 1	36 = 7
5 = +	13 = 1	21 = 3	29 = +	
6 = 1	14 = 3	22 = +	30 = 2	
7 = 0	15 = +	23 = +	31 = 2	
8 = 5	16 = +	24 = +	32 = 2	

Wie die Tabellen 11 und 12 eindrucksvoll erkennen lassen, ist nach 10 Tagen der Einfluss der zusätzlichen Injektion besonders markant. Die Behandlung mit Methylenblau, Vitamin und Lävulose führt hierbei zu einer fast vollständigen Unterdrückung des Asciteswachstums. Wenn man von einzelnen vom Normalverlauf sehr stark abweichenden Fällen

absieht, liegt bei der reinen Ascitesimpfung nach Tabelle 11 die durchschnittliche Gewichtszunahme bei 7 bis 8 Gramm, bei der kombinierten Impfung (Tabelle 12) dagegen bei annähernd 1 Gramm. Ein Vergleich mit der Tabelle 7 zeigt, dass nach längerer Zeit die hemmende Wirkung auf die Ascitesvermehrung geringer wird. Da die injizierten Stoffe in einigen Tagen ausgeschieden bezw. verbraucht sind, ist diese Feststellung nicht überraschend. Bemerkenswert ist, dass von den 36 "Methylenblautieren" nur zwei das normale Asciteswachstum erreichen. Nach den Tabellen 8 und 9 wirkt eine spätere gesonderte Injektion von Methylenblau, Vitamin C und Lävulose wesentlich schwächer, was so gedeutet werden könnte, dass bei den Tierversuchen in erster Linie eine krebsverhütende Wirkung gefunden worden ist. Schlussfolgerungen bezüglich einer evtl. Beseitigung bereits vorhandener grösserer Krebsmassen erscheinen auf Grund der hier beschriebenen Tierversuche nicht angebracht, da es sich im wesentlichen (abgesehen von den 10 Tieren der Tabelle 8) um eine einmalige Zufuhr handelt. Schliesslich ist noch zu bedenken, dass es sich bei der Injektion von 1 ml pro 20 g Lebensgewicht um Mengen handelt, die, auf menschliche Abmessungen übertragen, eine Injektion von 3 - 4 Liter innerhalb von 2 Sekunden bedeuten würde. Es ist erstaunlich, dass die Tiere diese Behandlung überhaupt überstehen und dass die günstige Wirkung der Zusätze nach den Tabellen 10 und 12 derart markant gefunden wird.

2. Diskussion der Ergebnisse.

Die Tatsache, dass man bisher bei der Warburg-Methodik nur Milchsäurezunahmen, jedoch keine Milchsäureabnahmen beobachtet hat, ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass man nach Warburg nur die Milchsäure in der Elektrolytflüssigkeit, aber nicht in den Asciteszellen bestimmt

hat. Bei den hier beschriebenen Untersuchungen wird dagegen die Gesamtmilchsäure erfasst. Das bisher nicht beobachtete Verschwinden der Milchsäure kann nur innerhalb der Asciteszellen stattgefunden haben. Dass bei der Glykolyse die Milchsäurebildung reversibel verläuft, ist bekannt. [18] Es kann also die Gleichung der Milchsäurebildung aus Brenztraubensäure CH_3-CO-COOH+DPNH+H^+ CH_3-CHOH-COOH+DPN^+ nach beiden Richtungen verlaufen. Dass die gebildete Brenztraubensäure nur zu einem geringen Teil in den Atmungszyklus (Zitronensäurezyklus) einmünden kann, geht daraus hervor, dass die verschwindenden Milchsäuremengen viel grösser sind als die zu der gleichzeitig gemessenen Atmung benötigten Brenztraubensäuremengen. Die im experimentellen Teil kurz erwähnten Brenztraubensäuremessungen zeigen, dass eine entsprechende Anhäufung der Brenztraubensäure nicht stattgefunden hat. Hier müssen sich also Vorgänge abspielen, die bisher nicht bekannt sind. Dass Einzelheiten beim Ablauf der Glykolyse noch unbekannt sind, geht bereits aus einer flüchtigen Betrachtung der Literatur hervor. Soe konnte LAMPRECHT [19] erst vor kurzem zeigen, dass die Fruktose gestörte Enzymsysteme durch einen von ihm entdeckten neuen und kürzeren Weg beim Kohlenhydratstoffwechsel der Leber umgehen kann. Bei den eingangs erwähnten Ascitesversuchen von TRAUTSCHOLD[14] wird bei Fruktosezusatz ebenfalls dieser bisher unbekannte enzymatische Weg angenommen. Diese diesbezüglichen Ergebnisse sind in der folgenden der Dissertation von TRAUTSCHOLD entnommenen Tabelle enthalten.

Tabelle 10

(Mikrogramm/ 100 Millionen Zellen)

	Glukose		Fruktose	
Adenosin-triphosphat	141	22	155	16
Brenztrauben-säure	2,1	0,38	3,4	0,45
Dihydroxyace-tonphosphat	53,7	9,2	5,1	0,85
Fruktose-1-phosphat	814	77	87,6	10,2
Phosphorenol-brenztrauben-säure	13,5	2,1	6,3	0,9
Diphosphopyri-dinnucleotid	68,2	7,6	48,0	8,3

Von den in der Tabelle 10 aufgeführten nach 15 Minuten gemessenen Zwischenprodukten werden bei Glukosezusatz Dihydroxyacetonphosphat und Fruktose-1, 6-diphosphat um etwa das Zehnfache höher gefunden. Bei Fruktose ist dieser Anstau der Zwischenprodukte nach Tabelle 10 nicht festgestellt. Während TRAUTSCHOLD ebenso wie TÖDT und SEEGER [13], sowie LAMPRECHT und TÖDT [4] bei Fruktose eine im Vergleich zur Glukose annähernd verdoppelte Atmungsgeschwindigkeit der Asciteszellen finden, ist dies bei den diesbezüglichen Versuchen der Tabelle 4 nicht der Fall. Da, wie bereits gesagt, auch andere Autoren [16) 17)] diesen Fruktoseeffekt nicht feststellen konnten, scheinen sich in dieser Beziehung Asciteskulturen verschiedener Herkunft verschieden zu verhalten. Glukose hemmt die endogene Atmung infolge der stark erhöhten Glykolyse, denn sie entzieht damit dem Atmungssystem Phosphatacceptoren, wobei die energiereichen Triosephosphate nicht verwertet und in erhöhter Konzentration in der Zelle "liegen bleiben". Fruktose dagegen umgeht die Stufe der

Triosephosphat-Dehydrierung, sie bildet schneller Brenztraubensäure, womit die energieverbrauchenden und energieliefernden Reaktionen der Glykolyse "im System" bleiben. Aus diesem Grund wird dem Atmungssystem kein Acceptor entzogen, die Atmung bleibt nach Fruktose deshalb unbeeinflusst, da hier der neue LAMPRECHT'sche enzymatische Weg durch Fruktose ermöglicht ist. Es wird angenommen, dass die Glycerinaldehydphosphatdehydrasereaktion und nicht der Hexokinase-Umsatz eine limittierende Reaktion des glykolytischen Stoffwechsels ist. Wie die durchgeführten Vergleichsversuche mit Glukose zeigen, wird nach Gaben dieses Zuckers ein ca. 10-facher Anstieg derjenigen Substrate gefunden, die im glykolytischen Schema v o r der Glycerinaldehydphosphatdehydrasereaktion gebildet werden, also ein Anstau der Triosephosphate und Hexosephosphate. Damit sind ähnliche Stoffwechselverhältnisse des Glukoseumsatzes der Tumorzellen vorhanden, wie in der diabetischen Stoffwechsellage, ebenfalls nach Glukosebelastungen. Dies ist ein wichtiger therapeutischer Hinweis. Angaben von TRAUTSCHOLD am Schluss seiner Dissertation zeigen bereits bei vielerorts angestellten klinischen Versuchen nach Zugabe von Fruktose in vielen Fällen günstige therapeutische Erfolge.

In einer Reihe neuerer Arbeiten stellten F. WINDISCH und Mitarbeiter ebenfalls fest, dass der glykolytische Krebsstoffwechsel anders verläuft, als man bis dahin angenommen hatte. Nach diesen Befunden ist die Glykolyse nicht in der Lage, rein anaerob die für das Wachstum erforderliche Energie zu liefern. Bereits 1926 hatte WARBURG [20] gefunden, dass Krebszellen unter Stickstoff lediglich noch zu einem relativ kurzfristigen ("temporären") Wachstum fähig sind und bei Fortdauer der Desoxybiose alsbald absterben. Demzufolge hat O. WARBURG [21] neuerdings das glykolytisch gebildete ATP als "minderwertig" bezeichnet mit der Begründung, dass es nach seiner Auffassung

nicht wie das Atmungs-ATP an die Struktur gebunden sei. Zu einer in gleicher Richtung liegenden kritischen Aussage sind schon früher F. WINDISCH, H. HAEHN und W. HEUMANN [22] gelangt, deren langjährige Anoxybioseversuche insgesamt gewertet, [23] zu der Schlussfolgerung führten, dass beim "oxy- und anoxybiotischen Zuckerabbau zwei aualitativ verschiedene Arten von dissimilatorischer Energie entstehen", von denen die "oxydativ gebildete als biologisch wirksam" dagegen "die durch Spaltung freigesetzte als biologisch unwirksam" gekennzeichnet ist.

Neue Gesichtspunkte in der wieder problematisch gewordenen Frage der anaeroben Energiebildung zeichneten sich ab, als von WINDISCH und Mitarbeitern bei näherer Untersuchung der anabiotischen Zellreaktionen ein bisher noch unerkannter anoxygener Energieprozess ausfindig gemacht werden konnte, der im Gegensatz zur Gärung und Glykolyse [24) 25] biosynthetisch ausserordentlich funktionsfähig ist. Dieser Stoffwechsel konnte durch Zugabe von Kochsäften menschlicher Carcinome, [26] aber auch durch bestimmte Substanzen wie z. B. Lecithin und ungesättigte Fettsäuren [27] erzeugt und dadurch gemessen werden, dass ohne Sauerstoffanwesenheit durch Zusatz dieser Stoffe eine rein anaerobe Züchtung ebenso wie aerob ermöglicht wurde. Damit ist bewiesen, dass ein die Atmung biosynthetisch voll ersetzender bisher unerkannter Stoffwechsel bei der reinen Gärung und Glykolyse stattfindet.

Wichtig für die biochemische Beurteilung des in der vorliegenden Arbeit beschriebenen günstigen Methylenblaueffekts ist möglicherweise die weitere Tatsache, dass WINDISCH diesen neuen Stoffwechsel durch 2,4-Dinitrophenol (DNP) reversibel hemmen und durch Zugabe von Dinitrophenol bei Asciteskrebszellen die Malignität völlig beseitigen konnte. [28] Impftumoren wie WALKER-Carcinom, JENSEN- und YOSHIDA-Sarkom regressieren im

Frühstadium bei lokaler subkutaner Injektion von DNP. [29], [30] [31] Dem Dinitrophenol wird aber ebenso wie dem Methylenblau eine Entkoppelungswirkung auf die Atmung zugeschrieben. Bei Kaninchenmitochondrien, deren Atmung durch o,o2 mg Guanidin auf ein Drittel bis ein Sechstel herabgesetzt war, wurde nach Acta Pharm. et Toxikol. Vol. II, 1955, Kapitel 10 bei Zugabe von Dinitrophenol und Methylenblau ein sehr unterschiedliches Verhalten beobachtet. Durch Nitrophenolzusätze in einer Konzentration, welche die Sauerstoffaufnahme bei Guanidinzugabe auf normale Werte erhöhte, erfolgte eine vollständige Blockierung bezw. Entkoppelung der Phosphorylierung. Bei Methylenblauzusatz dagegen wurde zwar in der gleichen Weise die Normalisierung des Sauerstoffverbrauchs wiederhergestellt, aber die Phosphorylierung gegenüber dem Kontrollversuch ohne Methylenblau fast auf das Doppelte erhöht. Sie erreicht damit etwa 60 % der ohne Guanidin oder Antimycin stattfindenden Phosphorylierung. Es wird hierbei der folgende Mechanismus der Methylenblauwirkung angenommen. Die zwischen den Flavoproteinen und dem Cytochromsystem durch Guanidin oder Antimycin blockierte Atmungskette wird dadurch wieder in Gang gebracht, dass Methylenblau vom Flavoprotein Elektronen aufnimmt und das so entstandene Leukomethylenblau durch das Cytochromsystem (Cytochromoxydase) wieder in Methylenblau zurückoxydiert wird. Für eine Gesamtbeurteilung der Methylenblauwirkung ist noch das Verhalten bei Unterbindung der Gewebsatmung beispielsweise durch KCN von Bedeutung. Fügt man derart vergifteten Zellen Methylenblau hinzu, so wird die Atmung weitgehend wiederhergestellt, denn der Farbstoff kann von den nicht gehemmten Dehydrasesystemen der Zellen reduziert und von molekularem Sauerstoff direkt reoxydiert werden, so dass die Mitwirkung einer Oxydase an der Atmung nicht mehr erforderlich ist. [32] Hiernach ist also Methylenblau in der

Lage, die Wirkung der beim Carcinomgewebe auf etwa den fünften Teil abgesunkenen Cytochromoxydase zu ersetzen. Jedenfalls ist die beobachtete günstige Methylenblauwirkung biochemisch durchaus plausibel, auch wenn dem Methylenblau ebenso wie dem Nitrophenol eine "Entkoppelungswirkung" auf die Atmung und Phosphorylierung zugeschrieben wird.

Bei den gesamten Untersuchungen und Erörterungen ist die WARBURG'sche Grundkonzeption zu Grunde gelegt, nach welcher das Krebsgewebe durch eine auf einen Bruchteil verringerte Atmung gekennzeichnet ist und anstatt der fehlenden Atmung eine Glykolyse stattfindet. Gegenüber dieser Anschauung wird neuerdings folgendes geltend gemacht. [32)]

a) Trotz der starken Glykolyse ist der Sauerstoffverbrauch von Tumoren nicht quantitativ verringert; eine wesentliche Gruppe von Tumoren verbraucht Sauerstoff ebenso schnell wie eine vergleichbare Gruppe von normalen Geweben.

b) Ebenso wie Krebsgewebe produzieren auch viele normale Gewebe grosse Mengen von Milchsäure.

c) In-Vitrountersuchungen haben gezeigt, dass verschiedene Tumoren Glukose und Fettsäure in einem ähnlichen Betrag in Kohlensäure verwandeln, wie es normale Gewebe tun; dies ist ein ausgesprochener Beweis eines signifikanten Atmungsstoffwechsels von neoplastischem Gewebe.

d) Die oxydative Phosphorylierung verläuft in Tumormitochondrien ebenso wie in normalen Mitochondrien.

Diese Hinweise zeigen, in wie hohem Masse bei der biochemischen Deutung des Krebsstoffwechsels noch offene Fragen vorhanden sind.

Die Tabellen 1 - 5 ergeben durch die ausserordentlich grosse Verschiedenheit sowohl der QO_2-Werte (QO_2 = 2,5 bis QO_2 = 40) als auch durch die sehr verschiedene Beeinflussbarkeit durch Zusätze zunächst die Schlussfolgerung, dass der Ascites in seinem Atmungsverhalten und dadurch auch in seiner Virulenz sehr verschieden sein kann, was auch WARBURG [15] beobachtet hat. Wichtig erscheint auch in diesem Zusammenhang das Ergebnis der Tabelle 1, dass durch Entfernung der Hauptmasse des Ascites der verbleibende Rest seinen Stoffwechsel in einem günstigen Sinne verändert, indem die Zellkonzentration schon in einem Tag absinkt und die QO_2-Werte sich entsprechend erhöhen. Zur Frage, ob die in vitro beim Ascites durch Zusätze beobachtete Erhöhung des Sauerstoffverbrauchs im Sinne einer therapeutisch günstigen Krebsbeeinflussung gedeutet werden kann, lässt sich auf Grund der Tabellen 5-9 eine Aussage machen. Nach diesen Tabellen ist es gelungen, durch Injektion derselben Zusätze, welche in vitro den Sauerstoffverbrauch erhöhten, in vivo das mit 100% Sicherheit zu erwartende Asciteswachstum um die Hälfte zu reduzieren. Damit ist die Frage gestellt, ob die durch Zusätze in vitro gefundenen Erhöhungen des Sauerstoffverbrauchs als Hinweis für eine eventuelle Therapie angesehen werden können. Dies gilt umsomehr, als von jedem der 3 genannten Zusätze eine therapeutisch günstige Wirkung beim Krebs bekannt ist. Von Methylenblau gilt dies allerdings in erster Linie für die ältere Literatur [33-37], während die Literatur der letzten Jahrzehnte hierüber so gut wie nichts mehr enthält.

Nach neueren Untersuchungen von HEISE, LÜHRS und NEUNHOEFFER [38] wurden Jensensarkome und Walkercarcinome durch Dehydroascorbinsäure (subkutane Injektion) eingeschmolzen. Das kann auf einer rein unspezifisch therapeutischen Wirkung beruhen, da im Carcinomendstadium, wie HUHN, SCHNEPPENHEIM und STRAKE [39] beweisen, eine Erschöpfung der Nebennierenrinden eintritt, die durch Verabreichung von l-Ascorbinsäure gebessert werden kann. Einige

Autoren, wie SZENES [4o] und ALLNER [41], fanden, dass der Tumorträger ein Vitamin-C-Defizit hat, da der Verbrauch erhöht sein soll. PLACENTINI [42] zeigt an vergleichenden quantitativen Ascorbinsäurebestimmungen zwischen normalem und Carcinomgewebe eine deutliche Verminderung im Tumorgewebe. Beispielsweise enthält nach seinen Versuchen normales Magengewebe 10,3 mg% Ascorbinsäure, Magencarcinomgewebe dagegen nur 5-7 mg%. Auch WIEL [43] bestätigt das Vitamin-C-Defizit bei Tumorkranken in Plasma und Leukocyten, RESEGOTTI [44] bei Yoshida-Ascites-Sarkom-Ratten in Leber, Milz, Niere und besonders in den Nebennieren. V. WENDT [45] zog aus diesen Versuchen die Schlussfolgerung in seiner Hypervitaminisierungstherapie. Er beobachtete unter der Therapie regressive Veränderungen des Tumorwachstums. 1950 berichtet er von einem Fall, bei dem unter der Vitamin A und C-Therapie ein Uteruscarcinom völlig zerstört wurde. ScHNEIDER [46] behandelte 100 Tumorkranke konsequent mit Vitamin A und C und konnte eine teilweise Gewichtszunahme sowie Rückgang des BSR erreichen. Vereinzelt wurde die Lebenszeit um 2 Jahre verlängert. KLEINE und HUBER [47] beurteilen die Hypervitaminisierungstherapie als günstig. SCHIRRMACHER und SCHNEIDER [48] erreichten mit dieser Therapie bei 67,7 % der Fälle eine Besserung des Allgemeinzustandes, bei 30% ein Nachlassen der Schmerzen, ein kurzes Finalstadium, aber keine Tumorvernichtung. FOCHEM [49] behandelt erfolgreich die Strahlenkrankheit mit Vitamin C und Laevosan. PICHA und WEGHAUPT [5o] haben 53 Fälle von weiblichen Genitalcarcinomen 2 Jahre lang mit hohen Dosen Vitamin A und C behandelt und festgestellt, dass sich der Allgemeinzustand gebessert hatte, bei 80 % Analgetica eingespart werden konnten, eine Appetitssteigerung und Gewichtszunahmen, bessere Strahlenverträglichkeit und eine leichte Verlangsamung des Tumorwachstums. Wurde die Therapie abgesetzt, so traten Rückfälle ein, um so schneller, je schwerer der Zustand vor Beginn der Therapie war. KLOSTERHALFEN [51]

empfiehlt bei Prostatacarcinomen neben der chirurgischen und Hormonbehandlung die Hypervitaminisierungstherapie mit Vitamin A und C.

Als wesentliche Schlussfolgerung sei abschliessend die Tatsache betont, dass jedenfalls zunächst in vitro und dann auch im Tierversuch das Krebswachstum leichter beeinflussbar ist, als meist vermutet wird. Dies zeigen auch sehr überzeugende Untersuchungen von POTTER [52]. Es wurden 4 Versuchsgruppen mit je 48 ausgewachsenen Mäusen gebildet. Alle 4 Gruppen erhielten die gleiche Menge Protein, Salze und Vitamine, darüber hinaus 2 Gruppen reichlich Kohlenhydrate. Die Gruppen waren weiterhin so eingeteilt, dass 2 gerade genügend Kalorien erhielten, damit das Körpergewicht konstant blieb. Die Tiere magerten nicht ab und wurden auch nicht krank, sondern waren sehr aktiv und ständig auf der Futtersuche. Sie erhielten insgesamt 6,4 Kalorien pro Tag und werden als "low-caloric" Mäuse bezeichnet. Die beiden anderen Gruppen mit je 9,6 Kalorien täglich werden hier als die "high-caloric" Mäuse bezeichnet. Diese erhielten also 50 % mehr Kalorien als zur Aufrechterhaltung des Körpergewichts notwendig waren. Es ist dies im Ganzen gesehen immer noch etwas weniger, wie die Tiere fressen würden, wenn man sie nach Belieben mit Futter versorgte.

Alle Gruppen werden einen über den anderen Tag 30 Minuten mit einer Standardminimaldosis von cancerogenem UV-Licht bestrahlt. 5 Monate lang trat zunächst kein Krebs auf. Dann zeigt sich bei der "high-caloric"-Gruppe Hautkrebs an den Ohren. Nach 9 Monaten lebte von dieser Gruppe keine Maus mehr. 6 von 48 Tieren starben aus unbekannter Ursache, 42 oder 88 % an Krebs. Von der "low-caloric"-Gruppe hatte nur eine Maus oder 2 % nach 9 Monaten Krebs. Diese Gruppe war ständig in Bewegung, während die "high-caloric"-Gruppe sich ruhig verhielt und im Ganzen indolent war. Nach einem längeren und forcierten Arbeitsversuch wurde

die Krebsbildung erheblich reduziert. Die "Arbeitsmäuse" frassen weniger als die Kontrolltiere, so dass es an sich schwer zu sagen ist, ob der kalorische Effekt oder die Arbeit die wesentlichen Faktoren sind. Jedenfalls hat also eine "Bewegungstherapie", verbunden mit zwar ausreichender, aber mässiger Ernährung, ausgereicht, um den Krebs zu verhüten.

Abschliessend sei noch auf eine neue Arbeit von WARBURG[53)] verwiesen, nach welcher der Krebsstoffwechsel sich in wenigen Tagen ausbilden kann und nach Wochen zum Teil noch reversibel zu sein scheint. WARBURG betont, dass die von ihm festgestellten Tatsachen unsere Auffassung von der Entstehung der Krebszellen ändern.

IV. Zusammenfassung.

Einer Reihe von Mäusen wurde EHRLICH'sches Ascitescarcinom überimpft, nach einigen Tagen wieder abpunktiert, die Zellzahl bestimmt und deren Atmung elektrochemisch in der TÖDT-schen Apparatur gemessen. Hier zeigte sich nach Glukosezusatz eine Verminderung der Zellatmung um die Hälfte, nach Fruktose und Methylenblauzusatz eine im Vergleich zur Glukoseatmung bis um das Dreifache verstärkte Atmung. Zur Bestätigung der in-vivo-Versuche wurden 56 Mäusen bei der Ascitesinjektion Fruktose, Ascorbinsäure und Methylenblau mitinjiziert oder einige Tage später intraperitoneal appliziert. Vergleichsweise wurden 96 Mäuse nur mit Ascites beimpft. Während diese eine durchschnittliche Lebensdauer von 13,6 Tagen und eine Gewichts- bzw. Asciteszunahme von 7,9 g hatten, lebten die Mäuse mit Zusätzen durchschnittlich 15 Tage und nahmen nur um durchschnittlich 3,7 g an Gewicht zu. Auch zeigten sie während der Dauer ihrer Erkrankung einen besseren Allgemeinzustand als die nur mit Ascites beimpften Mäuse. Eine positive Beeinflussung der Atmung und des Wachstums des EHRLICH'schen Mäuseascitescarcinoms ist also durch Fruktose, Ascorbinsäure und Methylenblau möglich.

V. Literatur

1	Warburg, O.	"Über den Stoffwechsel der Tumoren" Springer-Verlag (1926)
2	Seeger, P. G.	"Untersuchungen am EHRLICH'schen Tumorascitescarcinom der Maus." Dtsch. Gesundheitswesen 12,1265 (1957)
	"	"Virulenz, körpereigene Abwehr und Aktivierung der Atmung beim EHRLICH'schen Ascitescarcinom der Maus." Vitalstoffe, 11 (III,3) 108 (1958)
	"	"Experimentelle Ergebnisse zur Biologie des Krebses." Hippokrates 11, 413 (1959)
3	Loewenthal und Jahn	"Übertragungsversuche mit carcinomatöser Mäuseascitesflüssigkeit und ihr Verhalten gegen physikalische und chemische Einwirkungen". Zeitschr. f. Krebsforsch.37,439 (1932)
4	Tödt, F.	"Elektrochemische Sauerstoffmessungen". 87 (1958)
5	Petering, H.G. und Daniels, F.J.	J. Am. Chem. Soc. 60, 2796 (1938)
6	Wanner, H.	Helv. Chim. Acta 28, 23 (1945)
7	Blinks, L.R. und Skow, R.K.	Natl.Acad, Sci. U. S. 24, 413,420 (1938)
8	Baumberger, J.P.	Cold.Spring Harbor Symposia. Quant. Biol. 7, 195 (1939)
9	Beecher, H.K., Follansbee, R., Murphy, A.J. und Craig, F.N.	J. Biol. Chem. 197 (1942)

10	Berggren, S. M.	Acta Physiol. Scand. 4, Suppl. XI, 92 (1942)
11	Wiesinger, K.	Helv. Physiol. Pharmakol. Acta 6, 13 (1948)
12	Kolthoff, I. M. und Laitinen, A.H.	Special articles, "The voltametric determination of oxygen". Science 92, No.2381, 152 (1940)
13	Tödt, F. und Seeger, P.	s. Nr. 2
14	Trautschold, I.	"Abbauwege und Energetik der Kohlenhydrate bei Diabetes und in Tumorzellen. Nachweis eines Insulinangriffspunktes". Dissert. an.der Techn. Hochsch. München (1958)
15	Warburg, O., Gawehn, K. und Geissler, A.W.	"Stoffwechsel von embryonalen Zellen und von Krebszellen". Zeitschr. f. Naturforsch. 11 b, 11, 660 (1956)
16	Seelich, W., Weigert, W. und Letnansky, K.	"Über die endogene Atmung von EHRLICH-Ascitestumorzellen und deren Beeinflussung durch Glukose und Fruktose". Zeitschr. f. Krebsforsch. 61, 368 (1956)
17	Kun, K. Talalay, P. und Williams-Ashman, H.G.	"Studies on the EHRLICH ascites tumor, I.The enzymie and metabolic activities of the ascitic cells and the ascitic plasma". Cancer Res. 2, 855 (1951)
18	Leuthardt, F.	"Lehrbuch der physiol.Chemie" 13. Aufl. (1957) 291
19	Lamprecht, W. u. Trautschold, I.	"Nachweis eines direkten Insulineffekts auf den Kohlenhydratstoffwechsel der Leber". Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol.Chemie,311,245 (1958)
20	Warburg, O., Wind,F. u. Negelein, E.	"Über den Stoffwechsel von Tumoren im Körper". Klin.Wschr. 1926, 829

21 Warburg, O. "Über die Entstehung von Krebszellen". Naturwissensch.42,401 (1955)

22 Windisch, F., Haehn, H. und Heumann, W. "Qualitative Differenzierung des Atmungs- und Spaltungsstoffwechsels auf Grund des mycetischen Proliferationstestes". Arch. Geschwulstforsch. 6,64(1953)

23 Windisch, F., Nordheim, W. u. Heumann, W. "Cytochemische Untersuchungen über den Zusammenhang von nativer Gärungsintensität und des oxygenen Energiepotential beim anoxybiotischen Phosphatstoffwechsel". Arch. Mikrobiol.26,273 (1957)

24 Windisch, F. "Endergonic reactions of enzymes in dependence of the anaerobic energiepotential". Proc. of Internat. Symposium on Enzyme Chemistry. Tokio 1957, London:Pergamon Press 1958

25 Windisch, F. "Über einen bisher unbekannten Prozess der anoxygenen Energiebildung in Krebszellen". Vortr. Berl. Physiol. Ges., Klin. Wschr. 880, (1958)

26 Windisch, F., Nordheim, W. u. Heumann, W. "In menschlichen Krebsgeschwülsten nachweisbare, anoxygene Synthese auslösende Energiereaktionen". Zeitschr.f.Krebsforsch. 62, 423 (1958)

27 Windisch, F., Gerhardt, U., Nordheim, W., Heumann, W. u. Kerner, H. "Mit krebseigenen Stoffen wirkungsidentische, chemisch definierte Substanzen von anoxygen energiefreisetzender Potenz". Zeitschr.f. Krebsforsch. 62, 568 (1958)

28 Windisch, F. "Endergonische Enzymreaktionen in Abhängigkeit vom anoxygenen Energiepotential". Schweiz.Zeitschr.f.allg.Pathol.u. Bakt.Vol.21,No.6,1052 (1958)

29 Windisch, F. u. Heumann, W. — Naturwiss. 41, 481 (1954)

30 Windisch, F., Heumann, W., Linser, K. u. Langer, H. — Naturwiss. 42, 394 (1955)

31 Windisch, F., Haehn, H. u. Heumann, W. — Zeitschr. ges. inn. Med. 12, 615 (1957)

32 Skipper, H. E. u. Bennet, L. L. jr. — "Biochemistry of cancer" Ann. Rev. Biochem. 27 (1958) S. 137-140

33 Baldwin, E. — "Biochemie" 120 (1957) Verlag Chemie Weinheim, Bergstr.

34 Warburg, O., Kubowitz, F., u. Christian, W. — "Über die katalytische Wirkung von Methylenblau in lebenden Zellen". Biochem. Z. Bd. 227, 245 (1930)

35 Roffo, A.H. — "Oxydo-Reduktion in der Krebsbehandlung" Zeitschr. f. Krebsforsch. 37, 1 (1932)

36 — Handbuch der Biochemie 1. Bd. 889

37 Francks — "Moderne Therapie" Verlag Springer, Berlin, 1943, S. 493

38 Heise, E.
Lührs, W. u.
Neunhoeffer, O.

"Der Einfluss von Dehydroasascorbinsäure auf den Tumorstoffwechsel".

Naturwiss. 15, 425 (1957)

39 Huhn,
Schneppenheim
u. Strake

"Tumorwachstum und Nebenniere"

Dt. Med. Wschr. 81,366 (1956)

40 Szenes

"Die Wirkung der Ascorbinsäre bei der Röntgenbestrahlung von Geschwülsten und geschwulstartigen Wucherungen".

Strahlentherapie 71, 3 (1942), ref.Zbl.Chir.4-6,174(1944)

41 Allner

"Ein Beitrag zum Vitamin-C-Stoffwechsel des Tumorkranken"

Diss. München 1942, ref. Mschr. f. Krebsbekämpfung 7/8, 77 (1944)

42 Placentini

"Die Ascorbinsäure im neoplastischen Gewebe".
(Quantitative und histochemische Untersuchungen)

Bull.Assoc.franc.Etude Canc.36, 319 (1949), ref.Ber.ges.Physiol. 146, 3/4 (1951)

43 Wiel

"Untersuchungen über den Gehalt an Ascorbinsäure im Blutplasma und in den Leukocyten von Patienten mit bösartigen Mundgeschwülsten oder chronischen nicht neoplastischen Krankheiten".

Riv.ital. stomat. 9, 1143 (1953). ref. Dtsch. Zahnärztl. Ztschr. 10, 9, 703 (1955)

44 Resegotti — "Verhalten der Ascorbinsäure in Yoshida-Ascites-Sarkom-Ratten bei deren Behandlung mit Diacetylcolchicin allein und zusammen mit Hydrocortison und ACTH".
Ark. Kemi. 9, 499 (1956) ref. Ber. Physiol. 190, 2, 98 (1957)

45 v. Wendt — "Hypervitaminisierung"
Zschr. ges.inn.Med.4, 9/10, 267 (1949)
" " " " 5, 7/8, 255 (1950)
" " " " 7/8, 255 (1951)

46 Schneider — "Vitamin A und C bei Carcinom. Ein Beitrag zur Hypervitaminisierungstherapie bei Krebskranken".
Dt. Med. Wschr. 79, 15, 584 (1954)

47 Kleine u. Huber — "Zur Frage der Hypervitaminisierung mit Vitamin A und C bei inoperablen Carcinomen nach v. WENDT".
Münch. Med.Wschr.96,367 (1954)

48 Schirrmacher u. Schneider — "Grenzen und Möglichkeiten der Vitamin-A und C-Übervitaminisierung bei inoperablen und strahlenresistenten Carcinomen".
Ztschr. Geburtsh. und Gynäkol. 144, 2, 172 (1955)

49 Fochem — "Vergleichende Untersuchungen der Therapiemöglichkeiten der Strahlenkrankheit".
Wiener med.Wschr. 105, 45, 929 (1955)

50 Picha u. Weghaupt — "Über die Behandlung mit Vitamin A und C in hohen Dosen bei weit fortgeschrittenen Carcinomen des weiblichen Genitaltraktes".
Wie.med.Wschr.106,17,391 (1956)

51 Klosterhalfen — "Betrachtungen zur Behandlung des Prostatacarcinoms".
Z.Urol.51,11,680 (1958)

52 van Potter — "Ernährung und Krebsverhütung".
Science 101, 105 (1945)

53 Warburg, O., Gawehn, K. u. Geissler, A.W. — "Über die Entstehung des Krebsstoffwechsels in der Gewebekultur".
Ztschr.f. Naturforsch. Bd. 13 b (1958) S. 61

N a c h w o r t

Herrn Professor Dr. ing. F. Tödt danke ich für die Überlassung des Themas und die liebenswürdige Unterstützung bei der Arbeit. Mein Dank gebührt auch Herrn Chefarzt Dr. med. Hellenschmied und Oberarzt Dr. med. Stieve für die Genehmigung zur Benutzung des Labors und des Tierstalls für die Versuche.

Fräulein Schollmeier und Fräulein Kluge vom Chirurgischen Labor danke ich für die Hilfe bei den Laboruntersuchungen.

L e b e n s l a u f

Am 21. Februar 1932 wurde ich in Merseburg als erster Sohn des Malermeisters Otto R a n k e und seiner Frau Käthe geb. Preisser geboren. Nach dem Besuch der Grundschule und des Domgymnasiums in Merseburg bestand ich dort 1950 das Abitur. Aus politischen Gründen musste ich 1951, nachdem ich an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg 2 Semester Medizin studiert und das Vorphysikum abgelegt hatte, nach Westberlin flüchten, wo ich 1957 das Staatsexamen bestand. Meine Medizinalassistentenzeit leistete ich im Städtischen Krankenhaus Moabit ab und erhielt 1959 die ärztliche Vollapprobation. Bis 1960 arbeitete ich als Assistent am Pathologischen Institut des Städtischen Krankenhauses Moabit und bin jetzt in der Chirurgischen Abteilung tätig.